



TITLE:

Congenital amegakaryocytic  
thrombocytopenia iPS cells exhibit defective  
MPL-mediated signaling( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Hirata, Shinji

---

CITATION:

Hirata, Shinji. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia iPS cells exhibit defective MPL-mediated signaling. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-03-26

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13159>

RIGHT:

雑誌社から、本学位論文の出版社版を使用することを求められている。  
。また、SHERPA/ROMEOに「Published source must be acknowledged」の記載があり、本学位論文の出典「doi:10.1172/JCI64721.」を記載する必要がある。

京都大学	博士（医学）	氏 名	平 田 真 治
論文題目	Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia iPS cells exhibit defective MPL-mediated signaling (先天性無巨核球性血小板減少症患者由来の iPS 細胞は MPL を介した細胞内シグナルが欠落している)		
(論文内容の要旨)			
<p>造血サイトカインであるトロンボポイエチン（TPO）は、その受容体 MPL への作用を通じて、造血幹細胞の自己複製及び巨核球の分化・成熟に必須の役割を果たす。ヒト MPL の先天性変異によって発症する先天性無巨核球性血小板減少症（CAMT）では、血小板、赤血球、白血球の順で汎血球減少が発症し、最終的に骨髄不全で死に至る病態を示す。一方、MPL 欠損マウスモデルは、出生時からの血小板減少を呈するが、末梢赤血球数、白血球数は生涯維持され、致死的な汎血球減少は観察されない。本研究は、この種差による MPL 欠損の表現型の差異の原因を明らかにする目的で、骨髄移植によって救命された CAMT 患者の皮膚線維芽細胞から iPS 細胞（iPSC）を作製し、患者と同じ MPL 変異を有した CD34<sup>+</sup>造血前駆細胞集団（HPC）が巨核球・赤芽球細胞系譜へ分化する過程を in vitro で詳細に解析した。</p> <p>CAMT・iPSC 由来の HPC は、健常人 iPS 細胞由来の HPC とは異なり、MPL の発現及び MPL 下流の細胞内シグナル伝達能の欠失を示した。その後、分化培養検証結果から、既報の細胞表面分子によって規定した多能性造血前駆細胞（MPP）の生存及び増殖、MPP から巨核球・赤芽球細胞前駆細胞（MEP）への分化移行の両方が強く障害されていることを見出した。一方で、骨髄球系白血球への分化能の低下は軽度であったことから、ヒト造血細胞系における MPL 依存性が細胞系譜により異なることを示し、CAMT 病態の臨床経過を再現していた。</p> <p>次に、CAMT-HPC にレトロウィルスベクターを用いて MPL の発現を回復させると、種々の造血細胞系譜への分化障害の回復にとどまらず、健常人コントロールに導入した場合と異なり、赤血球より巨核球に偏った分化能を示すことを発見した。本来、骨髄内の赤血球と巨核球の産生比率は、1 個の巨核球から約 2000 個の血小板が産生されるという仮説から、40000：1 で赤血球優位であると想定される。実際に健常人コントロールを用いた解析では、MPL の強制発現実験によるシグナル強度増強に伴って、赤血球優位な分化能を示した。遺伝子発現解析の結果、健常人由来の HPC では MPL シグナルの増強が、巨核球系統への分化決定を促す転写因子 FLI1 の遺伝子発現を抑制した。しかし、CAMT-HPC では逆に FLI1 が発現上昇し、CAMT では MPL による赤血球優位な本来の分化プログラムの障害が起きていることが示唆された。</p> <p>本研究は、CAMT・iPSC を用いた生体外培養システムによる血球分化過程の解析から、（１）ヒト MPL シグナルは MPP の維持及び MEP への分化に不可欠であり、巨核球だけでなく赤血球の発生に必須であること、（２）当患者 MPL 変異は、FLI1 発現調節の異常による赤血球系譜への分化プログラム障害を引き起こすこと、を示した。これらの知見は、特発性血小板減少性紫斑病などの血小板減少症の治療に用いられる TPO 様低分子化合物（例、エルトロンボパグ）が、再生不良性貧血の特に赤血球減少が著しい患者に対しても有効であるとする報告（Olmes MJ et al. N Engl J Med. 2012）と合致し、ヒト生体造血幹・前駆細胞における MPL シグナルの生理的重要性を改めて確認することになった。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>造血因子トロンボポイエチン（TPO）の受容体である MPL の先天性変異を原因とする先天性無巨核球性血小板減少症（CAMT）Ⅰ型では、幼少時より血小板減少、赤血球減少が先行する致死的な汎血球減少を示す。一方、MPL 欠損マウスは血小板減少以外の顕著な汎血球減少を発症することなく生存可能であり、ヒト CAMT の病態は再現されない。そこで、本研究はヒト CAMT の病態の原因を明らかにする目的で、機能欠失型の MPL 変異を有する CAMT 患者の皮膚細胞から iPS 細胞を樹立し、細胞表面分子、細胞内シグナル、転写因子解析を用いて造血前駆細胞および巨核球と赤芽球系譜への分化能を詳細に検討した。分化過程の解析から、（1）ヒト MPL シグナルは多能性造血前駆細胞の維持及びその下流の巨核球・赤芽球前駆細胞への分化に不可欠であり、巨核球だけでなく赤血球系譜の発生に必須であること、（2）本 CAMT 由来血液細胞では、転写因子 FLI1 の発現調節の異常による赤血球系譜への分化プログラム障害を引き起こすこと、を明らかにした。本研究で得られた知見は、MPL シグナル増強効果を示す TPO 様低分子化合物が再生不良性貧血に有効である臨床エビデンスに合致しており、ヒト造血システムに加え、造血器疾患の治療戦略の理解に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 1 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日：                      年                      月                      日 以降			